مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۵، شماره ۱، ۱۳۹۹، ۵۶-۴۷
مقاله پژوهشی

# تأثیر اسانس ریحان بر ویژگی‌های میکروبی و حسی پنیر سفید سنتی ایرانی در طی دوره رسیدن

فریبا بخشی[۱]، حمید میرزایی[۲]، نارملا آصفی[۳]

[۱] دانش آموخته مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
[۲] گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
[۳] گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۲۰ مهر ماه ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: ۱۰ دی ماه ۱۳۹۸
10.22059/jvr.2018.258602.2798

## چکیده

**زمینهٔ مطالعه:** گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) به‌طور گسترده به‌عنوان طعم‌دهنده در مواد غذایی کاربرد دارد. اسانس این گیاه برای بعضی از باکتری‌های بیماریزای غذایی اثر ضدمیکروبی دارد.

**هدف:** هدف از تحقیق حاضر ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس ریحان بر ویژگی‌های میکروبی و حسی پنیر سفید سنتی ایرانی در طی دوره رسیدن بود.

**روش‌کار:** نمونه‌های پنیر با کمک تولیدکنندگان محلی با غلظت‌های صفر، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از اسانس ریحان تهیه شد. نمونه‌ها در روزهای صفر، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دوره رسیدن از نظر تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی، کلی‌فرم‌ها، *استافیلوکوکوس اورئوس* و نیز در روز ۹۰ دوره رسیدن از نظر ویژگی‌های حسی مورد آزمایش قرار گرفت.

**نتایج:** نتایج آزمون‌های میکروبی نشان داد که غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس در روزهای ۶۰ و ۹۰ دوره رسیدن روی جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی اثر مهاری معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) داشتند؛ اما روی جمعیت کلی‌فرم‌ها اثر مهاری معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ مشاهد شد. هم‌چنین غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس در روز ۹۰ و غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آن در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روی تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر مهاری معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۵$). ارزیابی حسی نشان داد غلظت‌های مورد استفاده از اسانس ریحان تأثیر معنی‌دار روی ویژگی‌های حسی نمونه‌ها نداشت.

**نتیجه‌گیری نهایی:** در مجموع می‌توان گفت که غلظت‌های فوق اسانس ریحان می‌تواند به‌عنوان یک ماده نگه‌دارنده طبیعی در پنیرهای سفید سنتی ایرانی استفاده شود.

**کلمات کلیدی:** اسانس ریحان، پنیرسنتی، ویژگی‌های میکروبی، ویژگی‌های حسی، دوره رسیدن

**کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.**

*نویسنده مسئول:* حمید میرزایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
**پست الکترونیکی:** hmirzaei@iaut.ac.ir

## مقدمه

علی‌رغم رشد صنایع لبنیات و توسعه کارخانجات پنیرسازی، بسیاری از تولیدکنندگان در سراسر دنیا علاقه دارند روش‌های تولید سنتی خود را حفظ کنند به‌طوری که در حال حاضر انواع پنیر صنعتی کمتر از انواع پنیرهای سنتی می‌باشد (۲۹). پنیر تولید شده از شیرخام به ویژه شیرگوسفندی در مقایسه با پنیر حاصل از شیر پاستوریزه عطر و طعم بهتری دارد (۶). پنیر سنتی تولید شده در شمال‌غرب ایران در بین مصرف کنندگان عمدتاً تحت عنوان پنیر لیقوان مشهور بوده و از نوع پنیر سفید ایرانی یا پنیر رسیده نگه‌داری شده درآب نمک می‌باشد که بطور سنتی و معمولاً از شیر میش و گاهی از شیر بز، شیر گاو و یا ترکیبی از آن‌ها تهیه می‌شود (۲۶،۳۱). این پنیر دارای طعم نمکی یا شور، کمی اسیدی و دارای ویژگی‌های مطبوع ارگانولپتیکی بوده و از نظر خواص حسی بسیار شبیه به پنیر سفید ترکیه (Beyaz peynir) و پنیر فتا (Feta) است (۲۶).

علی‌رغم برتری‌های حسی پنیرهای سنتی به پنیرهای صنعتی مسئله مهم در تولید این محصول بالا بودن بار میکروبی در نتیجه

استفاده از شیر خام می‌باشد و به دلیل آلوده شدن شیر در مراحل تولید و پس از دوشش، احتمال آلودگی پنیرهای تولید شده از این شیر به انواع میکروب‌های بیماریزا وجود دارد (۴۰) که خطر انتقال بیماری‌های مشترک بین انسان و دام را در پی دارد و ضمناً بسیاری از مراحل تولید این پنیر به صورت دستی و با استفاده از تجهیزات سنتی انجام می‌پذیرد و تمام این موارد خطر بروز آلودگی این محصول با میکروب‌های مولدفساد، بخصوص بیماریزا از قبیل *بروسلا*، سالمونلا، *اشریشیا کولای*، *استافیلوکوکوس اروئوس* کوآگولاز مثبت و یا کپک‌ها و مخمرها را از طریق حیوان، محیط و بخصوص کارگران ناقل افزایش می‌دهند و مجموعه این عوامل بهداشت این محصول را کاهش خواهند داد (۲۶،۲۸،۳۱).

افزایش میزان بروز بیماری‌های حاصل از غذا همراه با مشکلات اجتماعی و اقتصادی ناشی از آن لزوم تولید مواد غذایی سالم‌تر و نیز استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی جدید را مطرح نموده‌است. نگرانی در خصوص استفاده از برخی نگهدارنده‌های شیمیایی و واکنش منفی مصرف‌کنندگان به استفاده از این مواد موجب افزایش توجه به نگهدارنده‌های طبیعی به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی شده‌است. در این میان توجه تولید کنندگان و مصرف کنندگان به استفاده از اسانس‌های گیاهی معطوف شده است. خواص ضد میکروبی این مواد بر علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها، مخمرها و قارچها به اثبات رسیده است (۷،۹،۲۰،۳۴،۳۹).

اسانس‌های گیاهی ترکیباتی فرار و معطر هستند که در اندام‌های گیاه وجود دارند (۱۳). اهمیت اسانس‌های گیاهی در این است که علاوه بر ایجاد عطر و طعم در مواد غذایی، ترکیبات فنولی آن‌ها که شامل اوژنول، کارواکرول و تیمول می‌باشد دارای اثرات ضدمیکروبی می‌باشد بنابراین هرچه مقدار مواد فنولی در اسانس‌ها بالاتر باشد، خواص ضدمیکروبی آن‌ها نیز بالاتر خواهد بود (۷،۱۸).

ریحان (Ocimvm) یکی از گیاهان خانواده نعنایان (Lamiaceae) است که جزو گیاهان علفی یک‌ساله، معطر، دارای ساقه‌های منشعب از قاعده و به ارتفاع ۱۰ تا ۴۵ سانتی‌متر که برگ‌هایی متقابل، بیضوی نوک تیز با کناره دندانه‌دار و گل‌هایی معطر به رنگ‌های سفید، گلی، بنفش و مجتمع به صورت دسته‌های ۴ تا ۶ تایی در طول قسمت انتهایی ساقه دارد که اغلب، مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری می‌روید و ریحان نیز مانند سایر گیاهان خانواده نعناع منبع ترکیبات حلقوی و اسانس است که دافع حشرات بوده و عمل‌کرد ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی و ضداکسایشی دارند (۲۳،۲۴،۳۶،۳۷). اسانس ریحان مایع زرد روشن و معطر بوده و میزان استخراج آن از قسمت‌های مختلف گیاه در حدود ۱/۵۹- ۰/۱۵ درصد گزارش شده‌است. در ترکیب این اسانس بیش از ۲۰۰ جزء شناسائی و دسته بندی شده‌است (۱۱). اسانس معمولاً در کرک‌های غده‌ای سطح برگ، ساقه و گل تجمع می‌یابد که در ریحان به طور عمده در داخل غده سپرمانند ( Peltate glands) تولید و ذخیره می‌گردد و حاوی دو گروه ترکیبات عمده شامل فنیل پروپانوئیدها و ترپنوئیدها است. در میان ترکیبات فنیل پروپانوئیدها دو ماده متیل چاویکول و متیل اوژنول از مهم‌ترین اجزای سازنده اسانس ریحان به‌شمار می‌روند (۴۱). در اکثر مطالعات صورت گرفته لینالول، متیل چاویکول، اوژنول، استراگول، تیمول، پی-سیمن، ۱-۸- سینئول، آ- سیس-اوسیمن و آلفاکوپائن به‌عنوان ترکیبات عمده موجود در اسانس ریحان گزارش شده است (۱،۳،۴،۳۰،۳۲).

در مطالعات مختلفی که در شرایط آزمایشگاهی و در محیط کشت صورت گرفته مقادیر مختلفی به‌عنوان حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت کشندگی اسانس کامل و یا ترکیبات خاص از اسانس ریحان در مقابل *اشریشیا کولای* (۳،۴،۸،۳۴،۳۵) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (۲۱،۳۵) گزارش شده‌است. ولی مطالعات بسیار اندکی در خصوص تأثیر این اسانس بر ویژگی‌های میکروبی و حسی مواد غذائی بخصوص پنیر سنتی صورت گرفته‌است. تأثیر ضدمیکروبی اسانس ریحان روی شمارش باکتری‌های هوازی مزوفیل در پنیر Anthotyros (۲۴)، قطعات گوشت (۵) و سیب (۳۸) قبلا گزارش شده است.

با عنایت به ویژگی‌های متعدد بیولوژیکی اسانس ریحان و موارد متعدد استفاده شدن آن در صنعت لبنیات و اهمیت اقتصادی و بهداشتی پنیر سنتی سفید ایرانی نگه‌داری شده در آب نمک در داخل و حتی خارج کشور مطالعه حاضر با هدف تعیین تأثیر اسانس ریحان بر ویژگی‌های میکروبی و حسی پنیر سفید سنتی نگه‌داری شده در آب نمک طی دوره رسیدن انجام گرفت.

## مواد و روش کار

**تهیه اسانس ریحان:** اسانس ریحان مورد نیاز از آزمایشگاه بهداشت مواد غذائی که از قبل توسط Bakhshi و همکاران در سال ۲۰۱۷ از گیاه ریحان خریداری شده از بازار و با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شده و با استفاده از دستگاه کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) آنالیز شده بود تهیه و مورد استفاده قرار گرفت (۴).

**تهیه‌ی نمونه‌های پنیر:** نمونه‌های پنیر مورد نیاز با ۳ تکرار توسط تولیدکنندگان محلی پنیر سنتی بادستورالعمل مطرح شده توسط Mirzaei در سال ۲۰۱۱ تولید شد (۲۶). برای این منظور به شیر گوسفندی در دمای حدود ۲۳ درجه سلسیوس رنت اضافه و بعد از یکنواخت‌سازی به ۳ قسمت مساوی تقسیم شد. قسمت اول به‌عنوان نمونه کنترل (C) در نظر گرفته‌شد. به قسمت‌های دوم و سوم به ترتیب به مقدار ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس اضافه و به عنوان تیمارهای T1 و T2 در نظر گرفته شد. نمونه‌ها بعد از یکنواخت‌سازی کامل به مدت حدود ۱ ساعت در دمای محیط قرار گرفت تا لخته یکنواخت تشکیل شود. لخته‌های حاصله به داخل پارچه کتانی منتقل و بعد از ۱/۵-۱ ساعت زیر وزنه‌های ۱۲-۶ کیلوئی به‌مدت حدود ۱/۵ – ۱ ساعت قرار گرفت تا آب پنیر خارج شود. در نهایت لخته نسبتاً سخت حاصله به قطعات ۵*۵*۵ برش داده شده و قطعات به مدت ۵ ساعت در آب نمک ۲۴-۱۸ درصد قرار داده‌شد. سپس در طول ۶ روز رویه‌های قطعات پنیر در داخل یک طشت ۶ بار نمک پاشی شد. در نهایت نمونه‌ها در بسته‌های ۴۰۰ گرمی قرار داده شده و روی آن‌ها آب نمک ۱۱ درصد اضافه و درب آن‌ها لحیم کاری شد. نمونه‌ها در ماه اول در دمای حدود ۱۵ درجه و سپس تا روز ۹۰ دوره نگه‌داری در دمای حدود ۵-۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

**آزمون‌های میکروبی:** آماده سازی نمونه‌ها، تهیه سوسپانسیون اولیه و سریال رقت‌ها جهت آزمون‌های میکروبی طبق روش استاندارد ملی ایران به شماره ۱- ۸۹۲۳ (۱۷) و با استفاده از حلال سیترات سدیم (Merck, Darmstadt, Germany) ۲ درصد استریل صورت گرفت. برای شمارش کلیفرم‌ها از روش کشت مخلوط به‌صورت دو لایه و با استفاده از محیط کشت ویولت رد بایل آگار (VRBA) و گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ± ۲ ساعت در دمای ۳۱±۱ درجه سلسیوس استفاده شد (۱۹). شمارش کلی باکتری‌ها (باکتری‌های هوازی مزوفیل) طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۵۲۷۲ (۱۵) صورت گرفت. برای این منظور از روش کشت مخلوط در محیط کشت پلیت کانت آگار (Plate count agar (Difco, Detroit, Michigan, USA)) استفاده و پلیت‌ها در دمای ۳۰±۱ درجه سلسیوس بمدت ۷۲±۳ ساعت گرمخانه گذاری شد. شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۶۸۰۶ (۱۶)، با استفاده از محیط کشت بردپارکر آگار (Baird-parker agar) و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸±۲ ساعت صورت گرفت.

**ارزیابی حسی:** برای ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های پنیر سنتی حاوی غلظت‌های مختلف اسانس (نمونه‌های کنترل و تیمارهای T1 و T2) از تست پذیرش حسی استفاده گردید. ارزیابی حسی بوسیله یک پانل پانزده نفره که عمدتاً از دانشجویان دانشکده صنایع غذایی بودند، صورت پذیرفت. بعد از اتمام ارزیابی هر تیمار، و قبل از ارزیابی تیمار جدید جهت شستشوی دهان از آب استفاده شد. اعضای پانل معیار خود از ارزیابی حسی نمونه‌های پنیر را با استفاده از یک مقیاس حسی ۵ نمره‌ای (5-point hedonic scale) به صورت (نمره ۵ خیلی خوب، نمره ۴ خوب، نمره ۳ نسبتاً خوب، نمره ۲ ضعیف و نمره ۱ خیلی ضعیف) مشخص می‌کردند (۲۵).

**روش آنالیز آماری داده‌ها:** برای ارزیابی تأثیر غلظت اسانس بر متغیرهای وابسته در مقاطع زمانی مختلف از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه دو به دوی میانگین‌ها از آزمون تعقیبی توکی در سطح ($\alpha$=۰/۰۵) استفاده شد.

## نتایج

یافته‌های مربوط به تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس ریحان بر میانگین تعداد کلی باکتری‌ها (باکتری‌های مزوفیل هوازی) در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود؛ کاهش میانگین لگاریتمی تعداد کلی باکتری‌ها (هوازی مزوفیل) درنمونه‌های حاوی غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس ریحان در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۱۵۰ و غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس ریحان در روزهای ۱۵ و ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دوره رسیدن نسبت به نمونه‌های شاهد معنی‌داری بود ($P$<۰/۰۵).

نتایج مربوط به آنالیز آماری تأثیر اسانس ریحان روی تعداد کلی‌فرم‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طوری که در جدول ۳ دیده می‌شود میانگین لگاریتم تعداد کلی‌فرم‌ها در نمونه‌های دارای غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس ریحان در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دوره رسیدن به‌طور معنی‌دار کمتر از نمونه‌های شاهد بوده است ($P$<۰/۰۵).

نتایج مربوط به ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس ریحان بر تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های پنیر در طول دوره رسیدن درجدول ۳ نشان داده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌شود براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح ($\alpha$=۰/۰۵) غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس ریحان در روز ۹۰ و غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آن در روزهای ۳۰، ۶۰ و

۹۰ دوره رسیدن بطور معنی‌داری سرعت کاهش استافیلوکوکوس‌ها را افزایش داده است ($P<۰/۰۵$).

نتایج مربوط به تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس ریحان بر ویژگی‌های حسی طعم، عطر و مطلوبیت کل پنیر سنتی در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌طوری که در جدول دیده می‌شود غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس ریحان بعد از ۹۰ روز دوره رسیدن تأثیر معنی‌دار بر ویژگی‌های حسی پنیر نداشته است.

**جدول ۱.** جمعیت (میانگین ± انحراف معیار) لگاریتم تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در پنیرهای حاوی غلظت‌های مختف اسانس ریحان در طی دوره رسیدن.

| غلظت اسانس در نمونه (میلی‌گرم در کیلوگرم) | طول دوره رسیدن (روز) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | صفر | ۱۵ | ۳۰ | ۶۰ | ۹۰ |
| صفر | ۹/۱±۰/۴۸$^{a}$ | ۹/۲±۰/۵۸$^{a}$ | ۸/۶±۰/۵۸ $^{a}$ | ۸/۰۴±۰/۲۰$^{a}$ | ۷/۰۶ ±۰/۲۹ $^{a}$ |
| ۱۵۰ | ۹/۱±۰/۴۸$^{a}$ | ۹/۱±۰/۲۱ $^{a}$ | ۸/۳±۰/۱۷ $^{b}$ | ۷/۶۷±۰/۵۸ $^{ab}$ | ۶/۲± ۰/۸۱$^{b}$ |
| ۲۵۰ | ۹/۱±۰/۸ ۴$^{a}$ | ۸/۷±۰/۲۶ $^{b}$ | ۸/۲±۰/۲۳ $^{b}$ | ۷/۲۲±۰/۴۵ $^{b}$ | ۵/۱ ±۰/۷۶$^{c}$ |

$^{a,b,c}$ میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هرستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین آن‌ها می‌اشد ($P<۰/۰۵$).

**جدول ۲.** جمعیت (میانگین ± انحراف معیار) لگاریتم تعداد کلی فرم‌ها در پنیرهای سنتی حاوی مقادیرمختلف اسانس ریحان در زمان‌های مختلف دوره رسیدن.

| غلظت اسانس در نمونه‌ها (میلی‌گرم در کیلوگرم) | طول دوره رسیدن (روز) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | صفر | ۱۵ | ۳۰ | ۶۰ | ۹۰ |
| صفر | ۷/۱۶±۰/۳۰$^{a}$ | ۷/۰۹±۲/۲۳$^{a}$ | ۶/۱±۰/۵۸ $^{a}$ | ۳/۴۸±۰/۵۲ $^{a}$ | ۱/۸۷ ±۰/۸۹$^{a}$ |
| ۱۵۰ | ۷/۱۶±۰/۳۰$^{a}$ | ۶/۰۸±۰/۳۹ $^{b}$ | ۵/۲±۰/۵۷ $^{b}$ | ۲/۴۵±۰/۱۰ $^{b}$ | ۱/۰۰± ۰/۰۵$^{b}$ |
| ۲۵۰ | ۷/۱۶±۰/۳۰$^{a}$ | ۵/۵±۰/۶۰ $^{b}$ | ۴/۵±۰/۶۰ $^{c}$ | ۲/۱۱±۰/۰۹ $^{c}$ | ۰ $^{c}$ |

$^{a,b,c}$ میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هرستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین آن‌ها می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

**جدول ۳.** جمعیت (میانگین ± انحراف معیار) لگاریتم تعداد *استافیلو کوکوس اورئوس* در پنیرهای حاوی مقادیرمختلف اسانس ریحان در دوره رسیدن.

| غلظت اسانس در نمونه‌ها (میلی‌گرم در کیلوگرم) | طول دوره رسیدن (روز) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | صفر | ۱۵ | ۳۰ | ۶۰ | ۹۰ |
| صفر | ۶/۶۷±۰/۹۸$^{a}$ | ۸/۲۱±۰/۵۰$^{a}$ | ۷/۸۰±۰/۵۹ $^{a}$ | ۶/۷۹±۰/۵۳ $^{a}$ | ۵/۵۲±۰/۱۷$^{a}$ |
| ۱۵۰ | ۶/۶۷±۰/۹۸$^{a}$ | ۷/۷۹±۰/۱۹$^{a}$ | ۷/۱۷±۰/۵۷ $^{a}$ | ۵/۸۶±۰/۹۹ $^{ab}$ | ۴/۵۰±۱/۳۴$^{b}$ |
| ۲۵۰ | ۶/۶۷±۰/۹۸$^{a}$ | ۷/۳۱±۰/۲ $^{a}$ | ۶/۷۶±۰/۷۲ $^{b}$ | ۴/۹۸±۱/۹۰ $^{b}$ | ۳/۴۲±۰/۹۲$^{c}$ |

$^{a,b,c}$ میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هرستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین آن‌ها می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

**جدول ۴.** مقایسه (میانگین ± انحراف معیار) نمره داده شده به ویژگی‌های حسی در پنیرهای حاوی مقادیر مختلف اسانس ریحان در آخر دوره رسیدن.

| غلظت اسانس در نمونه‌ها (میلی‌گرم در کیلوگرم) | شاخص حسی | | |
|---|---|---|---|
| | طعم | عطر | مطلوبیت |
| صفر | ۳/۶±۰/۲۵ $^{a}$ | ۳/۶۴±۰/۱۹ $^{a}$ | ۳/۴±۰/۲۳$^{a}$ |
| ۱۵۰ | ۳/۴۷±۰/۳۶ $^{a}$ | ۳/۲۷±۰/۳۳ $^{a}$ | ۳/۴±۰/۳۰ $^{a}$ |
| ۲۵۰ | ۳/۵۳±۰/۳۲ $^{a}$ | ۳/۴۷±۰/۳۳ $^{a}$ | ۳/۲±۰/۲۸ $^{a}$ |

$^{a}$ میانگین‌های دارای حرف مشترک در هرستون نشان دهنده تفاوت غیر معنی‌دار بین آن‌ها می‌باشد.

## بحث

بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس ریحان بر میانگین باکتری‌های مزوفیل هوازی (TBC) طبق جدول ۱ نشان داد که با افزایش غلظت اسانس و زمان نگه‌داری تأثیر ضدمیکروبی اسانس ریحان علیه باکتری‌های مزوفیل افزایش می‌یابد. میانگین باکتری‌های مزوفیل هوازی درطول دوره رسیدن در نمونه‌های کنترل در حدود ۲ لگاریتم، در نمونه‌های تیمار $T_1$ در حدود ۳ لگاریتم و در نمونه‌های تیمار $T_2$ در حدود ۴ لگاریتم کاهش یافت. تعداد بالای شمارش باکتری‌های هوازی مزوفیل در نمونه‌های پنیر سفید سنتی نگه‌داری شده در نمک در حدود $cfu/gr^{-1}$ ۷/۵ و کاهش حدود ۲ لگاریتمی آن‌ها در طول ۹۰ روز دوره رسیدن نشان داده شده است (۲۵). مطالعه Maria و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان داد که اضافه کردن اسانس ریحان به‌تنهایی و بخصوص همراه با بسته بندی در اتمسفر تغییر یافته (MAP)، شمارش کلی‌باکتری‌ها (TBC) در پنیر Anthotyros را در طول دوره نگه‌داری کاهش می‌دهد (۲۴). Barbosa و همکاران در سال ۲۰۰۹ حداقل غلظت بازدارندگی چندین گونه اسانس گیاهی از جمله اسانس ریحان در غلظت‌های v/v ۳-۰/۰۲۵ درصد را در قطعات گوشت اشعه دیده و تلقیح شده با پاتوژن‌های طبیعی و میکرو ارگانیسم‌های طبیعی گوشت مانند مزوفیل‌های هوازی بررسی و گزارش کردند که همه گونه‌ها در برابر این اسانس‌های گیاهی حساسیت نشان دادند (۵). Synowiec و همکاران در سال ۲۰۱۴ فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های بسته‌بندی پولان حاوی عصاره ریحان شیرین را در غلظت‌های ۳ ، ۶، ۹ و ۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در افزایش عمر مفید سیب‌های ذخیره شده بررسی و گزارش کردند که عصاره ریحان شیرین فعالیت ضدمیکروبی کمتری در برابر باکتری‌های مزوفیل هوازی دارد (۳۸).

نتایج حاصل از تحقیق حاضر (جدول ۲) نشان داد که اضافه کردن غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از اسانس ریحان به پنیر سفید سنتی نگه‌داری شده در آب نمک در زمان‌های مختلف مورد آزمایش در طول دوره رسیدن در مقایسه با نمونه‌های گروه کنترل به ترتیب حدود ۱ و ۲ لگاریتم از تعداد باکتری‌های کلی‌فرمی را کاهش می‌دهد. این نتایج نشان داد که تعداد کلی‌فرم‌ها در روز ۹۰ دوره رسیدن در نمونه‌های حاوی ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به حد صفر و در نمونه‌های حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به حد $cfu/gr^{-1}$ ۱۰ کاهش یافت که این تعداد به‌طور معنی‌دار پائین‌تر از حد استاندارد تعریف شده برای پنیر سفید صنعتی نگه‌داری شده در آب نمک ($cfu/gr^{-1}$ ۱۰۰) می‌باشد (۱۴). این در حالی بود که تعداد کلی‌فرم‌ها در نمونه‌های شاهد در روز ۹۰ دوره رسیدن هنوز در حدود سقف حد مجاز تعریف شده برای پنیر سفید صنعتی نگه‌داری شده در آب نمک بود و با عنایت به روند کاهشی تعداد کلی‌فرم‌ها در کلیه نمونه‌ها در طول دوره رسیدن، در نمونه‌های شاهد برای رسیدن به زیر سقف حد استاندارد ایران حداقل به طول مدت نگه‌داری بیشتر از نمونه‌های تیمار که مستلزم زمان، فضا و در نتیجه هزینه می‌باشد نیاز خواهد بود.

خاصیت ضدمیکروبی اسانس ریحان، جعفری، آویشن و انجدان رومی (lovage) بر روی استافیلوکوکوس، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشریشیا کولای*، *باسیلوس سرئوس* و *سالمونلا تیفی موریوم* مورد مطالعه قرار گرفته و گزارش شد که اثر مهاری اسانس ریحان روی *اشریشیا کولای* بعد از اسانس آویشن بیشتر از اسانس دو گیاه دیگر بود. در ضمن اثر مهاری اسانس ریحان روی *اشریشیا کولای* بیشتر از استافیلوکوکوس، *سودوموناس آئروژینوزا*، *باسیلوس سرئوس* و *سالمونلا تیفی موریوم* گزارش شد (۳۴). در مطالعه‌ای Sienkiewicz و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثرات ضدمیکروبی اسانس ریحان و رزماری علیه باکتری‌های بیماریزا از جمله *اشریشیا کولای* را بررسی و گزارش کردند که ترکیبات اسانس ریحان در این مطالعه شامل ترکیبات ۱ -۸– سینول، متیل اوژنول ، پی - سیمین و سیس – کاریوفلیس بود و متیل چاویکول به عنوان ترکیب عمده آن توانست همه گونه‌های باکتری‌های بیماریزای جدا شده را مهار کند (۳۵). در مطالعه‌ای مشابه Hammer و همکاران در سال ۱۹۹۹ فعالیت ضدمیکروبی ریحان و رزماری را در برابر *اسینتوباکتر بومانی*، *آئروموناس وورونی*، *انتروکوکوس فکالیس*، *اشریشیاکولای*، *کلبسیا پنومونیه*، *سودوموناس آئروجنس*، *سالمونلا تیفی موریوم* و *سراتیا مارسسنس* را با استفاده از آگار دیفیوژن بررسی و گزارش کردند که اسانس ریحان در مهار این باکتری‌ها نسبت به رزماری مؤثرتر می‌باشد (۱۳).

در مطالعات صورت گرفته در شرایط آزمایشگاهی با روش براث میکرودایلوشن حداقل غلظت مهار کننده اسانس ریحان روی *اشریشیا کولای* به عنوان یکی از جنس‌های کلیفرمی توسط Bakhshi و همکاران در سال ۲۰۱۷، ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر،Semeniuc و همکاران در سال ۲۰۱۷، ۰/۰۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، Al-Bayati و همکاران در سال ۲۰۰۸، بیشتر از ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، Busatta و همکاران در سال ۲۰۰۹، ۰/۹۲

میلی‌گرم در میلی‌لیتر، Sienkiewicz و همکاران در سال ۲۰۱۳، ۰/۰۰۸۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و Lv و همکاران در سال ۲۰۱۱، ۱/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش کرده‌اند. که این اختلاف‌ها را عمدتاً می‌توان به تفاوت نوع و مقدار ترکیبات مؤثره موجود در اسانس‌های استخراج شده ربط داد (۳،۴،۸،۳۴،۳۵).

نتایج این تحقیق (جدول ۳) نشان داد که تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس*ها در نمونه‌های شاهد و نمونه‌های حاوی اسانس ریحان در ۱۵ روز اول دوره رسیدن بدون اختلاف آماری معنی‌دار روند افزایشی داشته و تا روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دوره رسیدن روند کاهشی داشته است. بر اساس آنالیز آماری غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس ریحان در روز ۹۰ و غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آن در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دوره رسیدن به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) سرعت کاهش استافیلوکوکوس‌ها را افزایش داده است. به عبارت دیگر از روز ۱۵ تا روز ۹۰ در نمونه‌های شاهد (فاقد اسانس) ۳۳درصد، در نمونه‌های حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس ریحان ۴۳ درصد و در نمونه‌های حاوی ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس ۵۴ درصد از تعداد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* کاسته شد.

Smith-Palmer و همکاران در سال ۲۰۰۱ خواص ضدمیکروبی ۲۱ اسانس ازجمله ریحان را علیه ۵ باکتری غذازاد که باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز جزو آن‌ها بود مورد مطالعه قرار دادند. نتایج مهار رشد و کشندگی باکتریایی غلظت‌ها نشان داد که این باکتری حساسیت بیشتری در برابر اسانس‌ها دارد و در غلظت‌های پایین اسانس نیز مهار می‌شوند (۳۷).

Sinha و Gulati در سال ۱۹۹۰ تأثیر اسانس ریحان را در برابر تعدادی از باکتری‌ها ازجمله *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی کرده وگزارش کرده‌اند که اسانس ریحان در برابر باکترهای مورد آزمایش مؤثر می‌باشند. این اثرات عمدتاً با ترکیبات عمده لینالول و متیل چاویکول مرتبط شناخته شده است (۳۶). ضمن مطالعه خاصیت ضدمیکروبی اسانس گیاهان دارچین، میخک، آویشن، ریحان، اسطوخودوس و گل شمعدانی (Geranium) علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس، آنتروکوکوس فکالیس، اشریشیا کولای، کلبسیلا پنومونیا، آنتروباکتر کلوآسه و آسینتوباکتر بومانی* گزارش شده که حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس ریحان علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۶/۵ و ۷/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر می‌باشد (۳۵). در ضمن این مطالعه نشان داد که ترکیب اسانس ریحان با جنتامایسین اثر هم‌افزایی ضدمیکروبی بر علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کلبسیلا پنومونیا* دارد. Aktugو Karapinar در سال ۱۹۸۷ فعالیت ضدمیکروبی اوژنول اسانس ریحان را در مهار باکتری‌های پاتوژن غذازاد ازجمله *استافیلو کوکوس اورئوس* بررسی کردند و نتایج گزارش آن‌ها نشان داد که اوژنول در مهار *استافیلوکوکوس اورئوس* مؤثر بود (۲).

علاوه بر مطالعات صورت گرفته روی خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی، مطالعات مختلفی نیز روی خاصیت ضد میکروبی اجزاء تشکیل دهنده اسانس‌ها صورت گرفته است که از این موارد می‌توان به کارواکرول و تیمول به‌عنوان جزئی از ترکیب شیمیایی اسانس گیاهان دارویی مختلف از جمله ریحان اشاره نمود. کارواکرول و تیمول بصورت انفرادی و ترکیبی اثر مهاری روی *استافیلوکوکوس اورئوس* دارند و انکپسوله کردن این ترکیبات با لیپوزوم اثر ضد میکروبی آن‌ها را افزایش می دهد (۲۱). Guarda و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز نشان داده‌اند که کارواکرول و تیمول میکروانکپسوله شده اثر مهاری قوی روی *استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کولای، لیستریا اینوکوا* (*L. innocua*) دارد و حداقل غلظت مهاری کارواکرول و تیمول برای مهار رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب برابر ۲۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و برای *اشریشیا کولای* به ترتیب ۳۷۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد (۱۲).

هر چند مکانیسم عملکرد ضدمیکروبی اسانس‌ها به‌طور کامل شناخته نشده است ولی روش‌های متعدد عملکردی از جمله تخریب دیواره باکتریایی، تغییر پروتئین‌های غشاء سیتوپلاسم، تغییر میزان نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی، غیر فعال کردن آنزیم‌های خارج سلولی، کاهش ATP داخل سلولی، نشت محتویات داخل سلولی، انعقاد سیتوپلاسم، قطع جریان الکترونی و نقل و انتقال فعال در دیواره سلولی در این خصوص مطرح شده است. هر چند برای هرکدام از ترکیبات موجود در اسانس‌ها ممکن است روش عمکرد خاص مطرح شود ولی در مجموع می‌توان گفت که اثر ضدمیکروبی یک اسانس خیلی به یک جزء از اسانس مربوط نبوده و به اثر مجموع و متقابل ترکیبات موجود مربوط می شود (۳۲).

بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس ریحان بر ویژگی‌های حسی طعم، عطر و مطلوبیت کل پنیر سفید سنتی ایرانی طبق جدول ۴ نشان داد که افزایش غلظت اسانس تا ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم تأثیر معنی‌دار بر ویژگی‌های حسی پنیر نداشت. Abbas و همکاران در سال ۲۰۱۷ گزارش کرده‌اند که افزودن ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی‌لیتر از اسانس ریحان به پنیر نرم UF بطور معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) در مرحله تازه بودن پنیر و نیز در

طول ۶۰ روز دوره نگه‌داری طعم نمونه‌ها را بهبود می‌بخشد. طبق این گزارش مطلوبیت نمونه‌های حاوی غلظت پائین (۰/۰۰۵ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی‌لیتر) بیشتر از نمونه‌های حاوی غلظت بالا (۰/۰۱۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی‌لیتر) بود. آن‌ها همچنین نشان دادند که افزودن اسانس ریحان باعث بهبود قوام بافت پنیر در طول دوره نگه‌داری بخصوص در نمونه‌های حاوی غلظت بالای اسانس می‌گردد ولی اثری روی ویژگی‌های ظاهری پنیر نرم ندارد (۱). نتایج تحقیق در خصوص اثر اسانس زیره سیاه روی ویژگی‌های حسی پنیر فاقد نمک (۴۲) و در خصوص اثر اسانس نعنا روی ویژگی‌های حسی پنیر نرم (۱۰) حکایت از بهبود ویژگی‌های حسی در حضور این اسانس‌ها دارد. Maria و همکاران در سال ۲۰۱۳ تأثیر بسته بندی و اسانس ریحان بر ویژگی‌های کیفی از جمله ویژگی‌های حسی پنیرسنتی یونانی "Anthotyros" را بررسی و مشاهده کردند که ترکیب استفاده از بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته و وکیوم و افزودن اسانس ریحان در غلظت‌های ۰/۱ و ۱ درصد علاوه بر افزایش زمان نگه‌داری از ۴ به ۱۰ روز ویژگی‌های حسی خوبی نیز در پنیر ایجاد می‌کند (۲۴). Mohammadi و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کرده‌اند که مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از اسانس گیاه ریحان به عنوان یکی از گیاهان خانواده نعناعیان باعث بهبود عطر، طعم و قابلیت پذیرش پنیر سفید آب نمکی طی فرآیند تولید و نگه‌داری می‌شود ولی مقادیر ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس اثر منفی روی طعم و قابلیت پذیرش پنیرها دارد (۲۷). Ramadan و همکاران در سال ۲۰۱۳ ویژگی‌های حسی بستنی طعم دار شده با اسانس‌های ریحان، آویشن و مرزنجوش را مطالعه و گزارش کردند که همه نمونه‌ها نمره بالایی در ویژگی‌های حسی دریافت نمودند. طبق این گزارش افزودن اسانس‌های مورد آزمایش تأثیری روی ویژگی‌های ظاهری، بافت و مقاومت در برابر ذوب شدن بستنی‌ها نداشت (۳۳).

**نتیجه‌گیری نهایی:** در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس ریحان می‌تواند بدون عوارض منفی روی ویژگی‌های حسی و ویژگی‌های میکروبی اثر مثبت داشته باشد. لذا این اسانس با غلظت‌های فوق می‌تواند به‌عنوان یک ماده نگهدارنده طبیعی در پنیرهای سنتی نگه‌داری شده درآب نمک مورد استفاده قرار گیرد.

## سپاسگزاری

تحقیق حاضر با حمایت معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام شده و مؤلفین مراتب تقدیر و تشکر خود از این معاونت را اعلام می‌دارند.

## تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

## References


1. Abbas, H.M., Assem, F.M., Zaky, W.M., Kassem, J.M., Omer, E.A. (2017). Antioxidant, rheological and sensorial properties of ultra-filtrated soft cheese supplemented with basil essential oil. Int J Dairy Sci, 12(5), 301-309. https://doi.org/10.3923/ijds.2017.301.309
2. Aktug, S.E., Karapinar, M. (1986). Sensitivity of some common food-poising bacteria to thyme, mint and bay leaves. Int J Food Microbiol, 3, 349-354. https://doi.org/10.1016/0168-1605(86)90017-6
3. Al-Bayati, FA. (2008). Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. J Ethnopharmacol, 116, 403-406. https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.12.003 PMID:18226481
4. Bakhshi, F., Mirzaei, H., Asefi, N. (2017). Evaluation of antibacterial effects of basil essential oil against *Escherichia colii*, *Rhodotorula rubra Staphylococcus aureus*. JFM, 3(4), 73-81 [In Persian].
5. Barbosa L.N., Rall V.L., Fernandes A.A., Ushimaru P.I., Da Silva Probst, I., Fernandes, A.Jr. (2009). Essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria in minced meat. Foodborne pathog Dis, 6, 725-728. https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0282
6. Buffa, M., Guamis, B., Pavia, M., Trujillo, AJ. (2001). lipolysis in cheese made from raw, pasteurized or high pressure treated goat's milk. Intl Dairy J, 11, 175-179. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00044-9
7. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int J Food Microbiol, 94, 223-53. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022 PMID: 15246235
8. Busatta C., Vidal R.S., Popiolski A.S., Mossi A.J., Dariva C., Rodrigues M.R., Corazza F.C., Corazza M.L., Vladimir Oliveira J., Cansian R.L. (2008). Application of *Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. Food Microbiol, 25, 207–211. https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.07.003 PMID: 17993397
9. Farag, R.S., Daw, Z.Y., Abo-Raya, S.H. (1989). Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. J Food Sci, 54, 74-76. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb08571.x

10. Foda, M.I., El-Sayed, M.A., Hassan, A.A., Rasmy, N.M., El-Moghazy, M.M. (2010). Effect of spearman essential oil on chemical composition and sensory properties of white cheese. J Am Sci, 6, 272-279.
11. Grayer, R.J., Kite, G.C., Goldstone, F.J., Brayan, S.E., Paton, A., Putievsky, E. (1996). Infraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. Phytochemistry, 43, 1033-1039. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00429-3 PMID:8987875
12. Guarda, A., Javiera F. Rubilar, J.F., Miltz, J., Maria Jose Galotto, MJ. (2011). The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. Int J Food Microbiol, 146, 144–150. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.011 PMID: 21411168
13. Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. J Appl Micribiol, 86, 985-990. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x PMID:10438227
14. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (1994) Microbiological specification for milk products. (2nd ed.). ISIRI Number: 2406 [In Persian].
15. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (2007) Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony count technique at 30 °C. 1st.Revision., ISIRI Number:5272 [In Persian].
16. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (2005). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Enumeration of coagulase – Positive staphylococci (staphylococcus aureus and other species) – Test method Part 1: Technique using baird – parker agar medium. (1st ed.). ISIRI Number: 6806-1[In Persian].
17. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI) (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination Part 1: General rules for the preparation of initial suspension and decimal dilutions. (1st ed.). ISIRI Number: 8923-1[In Persian].
18. Joshi, B., Lekhak, S. (2009). Antibacterial Property of Different Medicinal Plants. JSET, p. 5143-150.
19. Karim G. (2008) Microbiological examination of foods, (5th ed.). University of Tehran Press, Tehran, Iran, p. 64-87 [In Persian].
20. Koga, T., Hirota, N., Takumi, K. (1999). Bactericidal activities of essential oils of basil and sage against arrange of bacteria and the effect of these essential on *Vibrio parahoemolyticus*. Microbiol Res, 154, 267-273. https://doi.org/10.1016/S0944-5013(99)80024-X PMID: 10652788
21. Liolios, C.C., Gortzi, O., Lalas, S., Tsaknis, J., Chinou, I. (2009). Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity. Food Chem, 112, 77–83. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.060
22. Lv, F., Liang, H., Yuan, Q., Li, C. (2011). *In vitro* antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. Food Res Int, 44, 3057–3064. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.030
23. Mahasneh, A.M., EL-Oqlah, A. (1999). Antimicrobial activity of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. J Ethnopharmacol, 64(3), 271-6. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00132-9 PMID:10363844
24. Maria, I., Tsiraki, M.I., Savvaidis, I.N. (2013). Effect of packaging and basil essential oil on the quality characteristics of whey Cheese "Anthotyros". Food Bioprocess Technol, 6, 124–132. https://doi.org/10.1007/s11947-011-0676-6
25. Meilgaard, M.C., Civille, G.V., Carr, B.T. (1991). Sensory Evaluation Techniques. (2nd ed.). Crc Press, Boca Raton, Florida, USA. p. 345-356.
26. Mirzaei, H. (2011). Microbiological changes in lighvan cheese throughout its manufacture and ripening. AJMR, 5, 1609-1614. https://doi.org/10.5897/AJMR11.111
27. Mohammadi, Kh., Karim, G., Hanifian, Sh., Tarinejad, A., Gasemnezhad, R. (2011). Antimicrobial effect of Zataria multiflora Boiss. Essential oil on Escherichia coli O157:H7 during manufacture and ripening of white brined cheese. JFH, 1(2), 69-78.
28. Nagezadeh, A., Mirzaei, H. (2015). Prevalence rate and presence of virulence genes of *Escherichia coli* O157: H7 in raw milk and traditional cheese at Marand retails. JFM, 2, 87-96.
29. Najafi, A., Ziabakhsh Deylami, M., Karimianb, H., Abediniac, A., Hosseini Nejad, M. (2011). Microbiological changes of Pousti cheese during ripening. JFTN, 8(2), 85-91. [In Persian].
30. Ozcan, M., Chalchat, J.-C. (2002). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. J Food Sci, 20, 223-228. https://doi.org/10.17221/3536-CJFS
31. Pourali-Behzad, M., H Mirzaei, H. (2011). Study on the contamination rate of traditional white cheese presented in Tabriz Markets to coliforms and pathogenic *Escherichia coli*. JFH, 1(3), 71-80.
32. Radaellia, M., Da Silvaa, B.P., Weidlicha, L., Hoehneb, L., Flachc, A., Mendonc¸ L.A., Da Costac, A., Ethurb, E.M. (2016). Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against Clostridium perfringens. Braz J Microbiol, 47, 424-430. https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.10.001 PMID: 26991289
33. Ramadan, K.M.A., Ashoush, I.S., El-Batawy O.I. (2013). Comparative evaluation of three essential oils as functional antioxidants and natural flavoring agents in ice cream. World Appl Sci J, 23, 159–166.
34. Semeniuc, C.A, Pop, C.R., Rotar, A.M. (2017). Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria. J Food Drug Anal, 25, 403 -408. https://doi:10.1016/j.jfda.2016.06.002 PMID:28911683
35. Sienkiewicz, M., Lysakowska, M., Pastuszka, M., Bienias, W., Kowalczyk, E. (2013). The potential of use basil and rosemary essential oils as effective

antibacterial agents. Molecules, 18, 9334-9351. https://doi.org/10.3390/molecules18089334
36. Sinha, G.K., Gulati, B.C. (1990). Antibacterial and antifungal study of some essential oils and some of their constituents. Indian Perfum, 34, 126-129.
37. Smith-palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L. (2001). The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. Food Microbiol, 18, 463-470. https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0415
38. Synowiec, A., Gniewosz, M., Krasniewska, K., Lenoprzybyl, J., Baczek, K., Weglarz, Z. (2014). Antimicrobial and antioxidant properties of pullulan film containing sweet basil extract and an evaluation of coating effectiveness in the prolongation of the shelf life of apples stored in refrigeration condition. Int J Food Sci Tech, 23, 171-181. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014. 03.006
39. Tassou, C., Koutsoumanis, K., Nychas, G.J.E. (2000). Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. Food Res Int, 33, 273- 280. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00047-8
40. Vaziri, S., Nooroozi, M. (2012). Contamination of traditional cheeses of Lighvan with *E.coli* and in Coliforms Maragheh. Iran J Med Microbiol, 5(4), 23-28.
41. Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M.G. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. J Appl Micribiol, 84, 152–158. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00338.x PMID: 9633630
42. Zaky, W.M., Kassem, J.M., Abbas, H.M., Mahamed, S.H.S. (2013). Evaluation of salt-free labneh quality prepared using dill and caraway essential oil. Life Sci J, 10, 3379-3388.

Journal of Veterinary Research
J Vet Res, Volume 75, Number 1, 2020
Original Article

# Effect of Basil Essential Oil on the Microbial and Sensory Characteristics of Iranian Traditional White Cheese During Ripening

**Fariba Bakhshi[1], Hamid Mirzaei[2], Narmella Asefi[3]**

[1]*Graduated from the Food Sciences and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran*
[2]*Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran*
[3]*Department of Food Sciences and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran*

10.22059/jvr.2018.258602.2798
*Received 12 October 2019, Accepted 31 December 2019*

## *Abstract*

**BACKGROUND:** Basil (*Ocimum basilicum* L.) is widely used as a food flavoring. The essential oil of this plant has antimicrobial effects on some foodborne pathogens.

**OBJECTIVES:** The purpose of this study was to evaluate the effect of different concentrations of basil essence on the microbial and sensory properties of traditional Iranian white cheese during the period.

**METHODS:** Cheese samples were prepared from local producers with concentrations of 0, 150 and 250 ppm of basil essential oil. On day 0, 15, 30, 60 and 90, the cheese samples were tested for the number of aerobic mesophilic bacteria, coliforms, *Staphylococcus aureus*, and also on the 90$^{th}$ ripening day for the sensory characteristics.

**RESULTS:** The results of microbial assays showed that concentrations of 150 and 250 ppm of basil essential oil had a significant ($P$<0.05) inhibitory effect on aerobic mesophilic bacteria in the 60 and 90 days of ripening; meanwhile, the significant ($P$<0.05) inhibitory effect on the population of coliforms was observed on days 30, 60 and 90. Moreover, the concentration of 150 ppm of basil essential oil on day 90 and the concentration of 250 ppm on days 30, 60 and 90 demonstrated a significant ($P$<0.05) inhibitory effect on the population of *Staphylococcus aureus*. Sensory evaluation revealed that concentrations of the essential oil had no significant effect on the sensory properties of the samples.

**CONCLUSIONS:** It can be concluded that the above concentrations of basil essential oil can be used as a natural preservative in Iranian traditional White cheese.

**Keywords:** Basil essential oil, Traditional cheese, Microbial properties, Sensory characteristics, Ripening period

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

**Corresponding author's email:** hmirzaei@iaut.ac.ir Tel/Fax: 041-36376934

**How to cite this article:**

Bakhshi, F., Mirzaei, H., Asefi, N. (2020). Effect of Basil Essential Oil on the Microbial and Sensory Characteristics of Iranian Traditional White Cheese During Ripening, J Vet Res, 75(1), 47-56. https://doi.org/10.22059/jvr.2018.258602.2798

## Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Population (Mean ± SD) (Log cfu/g) of aerobic mesophilic bacteria in cheese containing different concentrations of basil essential oil during ripening. [a, b, c] Values with different letters in the same column indicate statistically significant differences ($P$<0.05).

**Table 2.** Population (Mean ± SD) (Log cfu/g) of coliforms in cheese containing different concentrations of basil essential oil during ripening. [a, b, c] Values with different letters in the same column indicate statistically significant differences ($P$<0.05).

**Table 3.** Population (Mean ± SD) (Log cfu/g) of Staphylococcus aureus in cheese containing different concentrations of basil essential oil during ripening. [a, b, c] Values with different letters in the same column indicate statistically significant differences ($P$<0.05).

**Table 4.** Organoleptic scores (Mean ± SD) of cheese containing different concentrations of basil essential oil in the end of ripening.[a] Values with same letter in the same column indicate statistically no significant differences.